

干姜中挥发性成分的 GC 指纹图谱研究

刘金环, 杨玉琴*, 秦利芬, 丁秦, 李明钊
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 建立干姜中挥发性成分的指纹图谱, 评价不同产地干姜药材的质量差异。方法: 用水蒸气蒸馏法提取, GC 法分析对比 11 批干姜药材挥发油的成分。色谱条件: HP-5 (320 $\mu\text{m} \times 30 \text{ m}$, 0.25 μm), 程序升温: 起始温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 145 $^{\circ}\text{C}$, 保持 6 min, 再以 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 165 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min, 再以 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气为氮气, 流速 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 分流比 30:1; 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。结果: 标示出干姜挥发油图谱中 20 个共有峰, 11 批干姜药材的挥发油相似度较高。结论: 该指纹图谱方法简便, 重复性好, 可作为干姜药材的质量控制方法之一。

[关键词] 干姜; 挥发油; 指纹图谱; 气相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0153-04

GC Fingerprint of Volatile Constituents of Rhizoma Zingiberis

LIU Jin-huan, YANG Yu-qin*, QING Li-fen, DING Qing, LI Ming-you
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To establish chromatographic fingerprint of volatile oil and investigate the variance of Rhizoma Zingiberis collected from different places. **Method:** First, gather Rhizoma Zingiberis from different places, then smashed and dried out. Second, mark off the different samples and extract the volatile constituents. Third, assay the final samples by GC and correct their fingerprints and make evaluations at last. The chromatography analysis was carried out on an HP-5 capillary column (320 $\mu\text{m} \times 30 \text{ m}$, 0.25 μm), the temperature program was as follows: 60 $^{\circ}\text{C}$ for six minutes, rose to 146 $^{\circ}\text{C}$ at 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, then rose to 165 $^{\circ}\text{C}$ at 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ for five minutes, and then rose to 250 $^{\circ}\text{C}$ at 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, by using helium as the carries gas, the flow rate of 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the split ratio 30:1, sample inlet temperature of 250 $^{\circ}\text{C}$. **Result:** A total of twenty common peaks identified from the GC fingerprints of volatile oil in Rhizoma Zingiberis. More than eleven samples of representative Rhizoma Zingiberis were chosen for preliminary fingerprint assay. The similarity, repetitiveness, steadiness and precision of these different Rhizoma Zingiberis were obtained. **Conclusion:** The quality of most of these Rhizoma Zingiberis is stable and controllable, which meet the requirements of the 2005-edition Pharmacopoeia. However, a minority of these Rhizoma Zingiberis has some differences in quality, and requires further investigation.

[Key words] Rhizoma Zingiberis; volatile oil; fingerprint atlas; GC

干姜为姜科植物姜的干燥根茎^[1-2], 主产于四川、广东、湖北等地。均系栽培, 冬季采收, 以个大、

质坚实、香气浓者为佳。干姜性味辛热, 入脾、胃、心、肺经, 具有温中散寒、回阳通脉和温肺化饮之功效^[3], 应用于脾胃寒证、亡阳证、寒饮喘咳^[4-6]。干姜中含挥发油约 2%, 主要是姜辣素^[7]、姜烯^[8]、姜烯酮、姜醇^[9]、姜酮等成分。

不同产地干姜药材中挥发油的含量各有差异, 由于中药指纹图谱对控制中药材质量有重要意义, 因此本实验采用 GC 法对干姜挥发油进行研究, 进行了初步的指纹图谱分析, 为干姜药材品质评价及质量监控提供实验依据。

[收稿日期] 20120927(542)

[第一作者] 刘金环, 在读硕士, 从事中药质量控制及新药研发, Tel: 13595072322, E-mail: liujinhuan230568@126.com

[通讯作者] * 杨玉琴, 教授, 硕士生导师, 从事中药质量控制及新药研发, Tel: 13595144269, E-mail: yyq55824@163.com

1 仪器与试药

HP-5 石英毛细管色谱柱 (320 $\mu\text{m} \times 30 \text{ m}$, 0.25 μm), Agilent 6890 Series GC System (美国, 20010507), GCB-2000 型全自动空气源 (北京怡丰瑞普科技有限公司), JJW-3000 型精密净化交流稳压电源 (扬州东方集团有限公司, 20010050), XS205 型电子天平 (瑞士梅特勒公司)。国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 版)。

乙醚 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20091010), 水为蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

11 批干姜药材分别购于不同药材市场, 经贵阳中医学院赵俊华教授鉴定为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎, 见表 1。

表 1 11 批药材的产地

No.	产地	No.	产地
1	广东 (佛山)	7	广西
2	广东 (湛江)	8	云南 (玉溪)
3	广东 (潮州)	9	云南 (曲靖)
4	重庆	10	四川
5	安徽	11	兴义
6	贵州		

2 方法与结果

2.1 GC 色谱条件 色谱柱为 HP-5 (320 $\mu\text{m} \times 30 \text{ m}$, 0.25 μm), 程序升温, 起始温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 145 $^{\circ}\text{C}$, 保持 6 min, 再以 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 165 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min, 再以 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气为氮气, 流速 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 分流比 30:1; 进样量 5 μL ; 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 供试品溶液的制备 称取干姜粉末 (过 3 号筛) 100.00 g, 量取 1 500 mL 蒸馏水, 置圆底烧瓶中, 按《中国药典》2010 年版附录 XD 挥发油测定法甲法提取^[2,10], 摇匀并密封, 静置过夜。用挥发油提取器进行提取; 得干姜挥发油。精密吸取挥发油 1 mL, 用乙醚定容至 100 mL, 得供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取同一份干姜供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次, 检测指纹图谱。结果表明: 各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 2%, 相对峰面积 RSD 均 < 3%, 说明供试品进样精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件, 分别于 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 进行测定, 结果表明各共有峰的相对保留时间 RSD < 0.05%, 相对峰

面积 < 3.2%, 说明 24 h 内供试品溶液稳定性较好。

2.3.3 重复性试验 精密取同一批号样品 6 份, 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果表明, 各共有指纹峰的相对保留时间 RSD < 0.23%, 相对峰面积 RSD < 3.73%, 表明该方法具有良好的重复性。

2.4 11 批干姜药材的 GC 指纹图谱的建立

2.4.1 指纹图谱的制备方法 药材按 2.2 项下方法处理得供试品溶液, 分别精密吸取各供试品溶液各 5 μL 注入气相色谱仪, 分别按 2.1 项下色谱条件测定, 记录 60 min 的色谱图。见图 1。

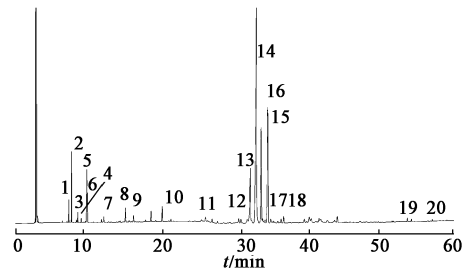


图 1 11 批干姜挥发油的气相色谱

2.4.2 共有峰的确定 取表 1 中的 11 批干姜药材, 分别按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 记录 85 min 的色谱图, 将测定结果导入国家药典委员会公布的中药指纹图谱评价软件进行处理, 共确定了 20 个共有峰。其中 $t_R = 33.005 \text{ min}$ 的峰面积较稳定, 且分离度好, 设为参照峰 S, 将各共有色谱峰保留时间和峰面积与同一图谱中参照峰的保留时间和峰面积相比, 其比值为各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 见表 2, 3。可以看出, 相对含量较高的组分除 16 号峰外, 还有 13, 14, 15 号峰。

2.4.3 指纹图谱的相似性评价 采用《中国药典》委员会出版的中药色谱指纹图谱相似度评价软件 2004 版进行相似度评价, 设置样品 1 图谱为参照谱, 进行多点校正, 生成对照指纹图谱, 得到干姜挥发油 GC 指纹图谱共有模式, 见图 2。不同产地干姜药材指纹图谱的相似度见表 2。

3 讨论

考察了不同型号色谱柱 (HP-5, DB-1701, INNOWAX, HP-35 等) 的分离效果, 结果色谱柱 HP-5 (320 $\mu\text{m} \times 30 \text{ m}$, 0.25 μm) 各峰之间分离效果最好, 而且出峰信号最多, 峰基本达到基线分离, 符合指纹图谱的要求。

表 2 11 批干姜药材共有峰相对保留时间(*t*)

min

峰号	样品号											RSD /%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	0.220	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.219	0.045
2	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.230	0.042
3	0.255	0.255	0.255	0.255	0.255	0.255	0.255	0.255	0.255	0.255	0.268	1.568
4	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.268	0.039
5	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.290	0.030
6	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.056
7	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.356	0.047
8	0.442	0.441	0.441	0.441	0.441	0.441	0.441	0.441	0.471	0.471	0.471	3.144
9	0.473	0.473	0.473	0.473	0.472	0.472	0.472	0.472	0.473	0.473	0.473	0.035
10	0.620	0.620	0.620	0.620	0.619	0.619	0.619	0.619	0.620	0.620	0.620	0.032
11	0.755	0.756	0.755	0.755	0.755	0.755	0.755	0.755	0.755	0.755	0.755	0.030
12	0.886	0.886	0.882	0.886	0.885	0.885	0.885	0.885	0.886	0.886	0.886	0.118
13	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.019
14	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.015
15	0.973	0.974	0.974	0.974	0.973	0.973	0.973	0.973	0.974	0.974	0.974	0.013
S	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
17	1.011	1.012	1.011	1.011	1.011	1.011	1.011	1.011	1.011	1.011	1.011	0.026
18	1.062	1.062	1.062	1.062	1.061	1.061	1.061	1.061	1.062	1.062	1.062	0.034
19	1.562	1.564	1.564	1.563	1.563	1.563	1.563	1.563	1.564	1.564	1.564	0.042
20	1.644	1.646	1.645	1.645	1.644	1.644	1.644	1.644	1.645	1.645	1.645	0.043

表 3 11 批干姜药材共有峰相对峰面积(*A*)

峰号	样品号											RSD /%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	0.028	0.084	0.021	0.062	0.020	0.030	0.033	0.073	0.064	0.055	0.026	0.507
2	0.088	0.255	0.077	0.212	0.059	0.135	0.175	0.224	0.184	0.170	0.096	0.431
3	0.013	0.047	0.014	0.031	0.013	0.017	0.020	0.043	0.030	0.028	0.028	0.473
4	0.012	0.021	0.025	0.014	0.012	0.028	0.031	0.020	0.029	0.011	0.018	0.386
5	0.210	0.399	0.201	0.251	0.278	0.157	0.171	0.397	0.470	0.390	0.228	0.378
6	0.030	0.119	0.036	0.104	0.029	0.060	0.060	0.113	0.054	0.060	0.060	0.489
7	0.015	0.035	0.014	0.029	0.017	0.017	0.014	0.036	0.026	0.026	0.023	0.361
8	0.048	0.073	0.038	0.075	0.036	0.057	0.059	0.075	0.050	0.058	0.053	0.240
9	0.020	0.039	0.020	0.039	0.016	0.033	0.044	0.038	0.025	0.024	0.031	0.315
10	0.024	0.022	0.027	0.016	0.033	0.017	0.033	0.022	0.035	0.020	0.025	0.259
11	0.027	0.029	0.033	0.035	0.034	0.034	0.033	0.030	0.032	0.031	0.015	0.189
12	0.028	0.042	0.044	0.041	0.032	0.036	0.039	0.042	0.033	0.041	0.056	0.187
13	0.707	0.526	0.440	0.566	0.572	0.671	0.544	0.546	0.505	0.460	0.425	0.163
14	2.300	2.849	2.690	2.558	2.689	2.428	2.640	2.821	2.828	3.047	2.586	0.078
15	0.717	0.966	0.821	0.834	0.816	0.914	0.989	0.969	0.863	0.931	0.853	0.094
S	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
17	0.033	0.034	0.032	0.031	0.032	0.034	0.030	0.035	0.034	0.034	0.058	0.221
18	0.069	0.055	0.039	0.052	0.039	0.053	0.049	0.057	0.050	0.039	0.049	0.182
19	0.015	0.014	0.013	0.012	0.007	0.014	0.018	0.014	0.012	0.014	0.011	0.203
20	0.021	0.012	0.010	0.007	0.014	0.011	0.023	0.015	0.016	0.009	0.010	0.373

表 4 11 批药材相似度分析

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	R
S1	1.00	0.98	0.99	0.99	0.99	0.98	0.97	0.98	0.99	0.98	0.99	0.99
S2	0.98	1.00	0.99	1.00	0.99	0.98	0.97	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
S3	0.99	0.99	1.00	0.99	1.00	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	1.00	1.00
S4	0.99	1.00	0.99	1.00	1.00	0.98	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
S5	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	0.98	0.98	0.99	1.00	0.99	1.00	1.00
S6	0.98	0.98	0.99	0.98	0.98	1.00	1.00	0.98	0.98	0.97	0.98	0.98
S7	0.97	0.97	0.99	0.98	0.98	1.00	1.00	0.97	0.97	0.97	0.98	0.98
S8	0.98	1.00	0.99	1.00	0.99	0.98	0.97	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
S9	0.99	1.00	0.99	1.00	1.00	0.98	0.97	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
S10	0.98	1.00	0.99	1.00	0.99	0.97	0.97	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
S11	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	0.98	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
R	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	0.98	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

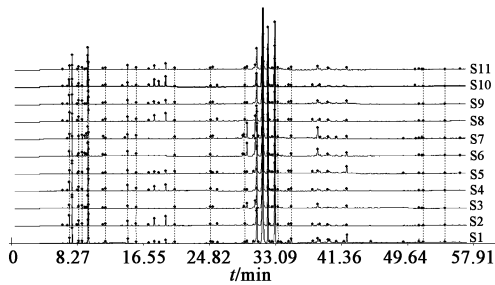


图 2 11 批药材共有模式叠加

气相色谱法中常遇到宽沸程多组分样品,选择恒定柱温不能兼顾不同沸点组分的分离。低沸点组分因柱温太高,色谱峰出柱过快,峰窄而相互重叠;而高沸点组分又因柱温太低,出柱慢,峰宽而平,有的组分甚至不能流出。本实验设计了多个升温程序,而以起始温度 60℃,以 5℃·min⁻¹程序升温至 145℃,保持 6 min,再以 2℃·min⁻¹程序升温至 165℃,保持 5 min,再以 8℃·min⁻¹程序升温至 250℃为最佳。

采用相似度评价软件对 11 批不同来源的干姜药材进行相似度评价,计算中位数相关系数,结果表明不同来源的干姜药材有较好的相似性,相似度均 >0.97,说明不同产地干姜药材的化学成分相对稳定。该法操作简便,精密度高、稳定性和重复性好,可用于干姜药材质量控制方法。

[参考文献]

[1] 王世清,刘绍欢,杨卫平. 贵州道地药材干姜的品种鉴定与品质评价研究[J]. 中医中药杂志,2009,16(2):65.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社,2010:63,附录 XD.

[3] 崔瑛,纪彬,冯志毅,等. 姜的温中功效物质研究[J]. 中药与临床,2011,2(5):27.

[4] 温小鹏,杨颖婷. 生姜、干姜临床应用规律浅析[J]. 光明中医,2011,26(12):2566.

[5] 杨从勇. 简述干姜的临床应用[J]. 四川中医,2008,26(11):61.

[6] 周静,杨卫平. 干姜的临床应用及药理研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2011,32(2):70.

[7] 孟江,卢国勇,程轩轩,等. 一测多评法同时测定干姜中 4 种姜酚类成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):77.

[8] 黄鹤归,叶晓川,田连起,等. 超临界萃取法与水蒸气蒸馏法提取桂枝-干姜药对的化学成分比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):85.

[9] 陈耕夫,郭晓玲,孟青. 干姜化学成分分析[J]. 氨基酸和生物资源,2002,24(2):5.

[10] 孔维军,赵艳玲,山丽梅. 正交法优选干姜挥发油提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(3):19.

[责任编辑 邹晓翠]